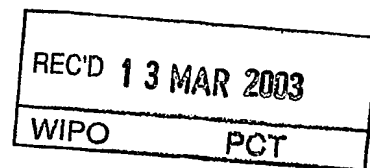


09 DEC 2004

17 17 452

PCT/CN03/00055

证 明



本证明之附件是向本局提交的下列专利申请副本

申 请 日: 2002 11 04

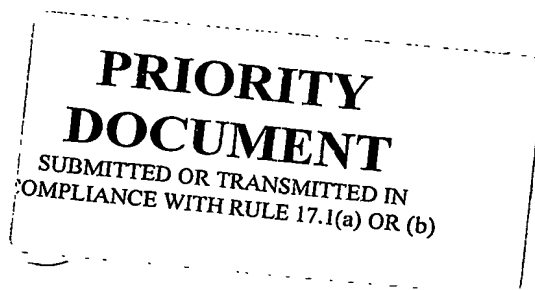
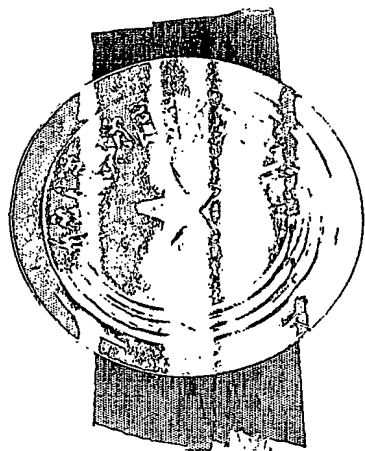
申 请 号: 02 1 34007.2

申 请 类 别: 发明

发明创造名称: 一种多面生物芯片

申 请 人: 成都夸常科技有限公司

发明人或设计人: 陈春生; 陈宁; 王建霞



中华人民共和国
国家知识产权局局长

王景川

2003 年 2 月 17 日

权 利 要 求 书

1、一种多面生物芯片,其特征为:在其立体结构的顶面、底面和侧面诸面中,一个以上、数量确定的多个面上固定有识别分子探针。

2、根据权利要求1的一种多面生物芯片,其特征为:所述的生物芯片至少含有一个多面探针板,即在基片立体结构的顶面、底面和侧面诸面中,一个以上、数量确定的多个面上固定有探针的探针板。

3、根据权利要求1或2的一种多面生物芯片,其特征为:所述的探针板至少含有一个在基片的顶面和底面两个面上固定有探针的双面探针板。

4、根据权利要求1或2的一种多面生物芯片,其特征为:所述的生物芯片的结构仅含探针板,或含有探针板和通过不可拆卸的或可拆卸的方式与探针板联接的、属于或不属于反应器的其它结构和部件。

5、根据权利要求1或3的一种多面生物芯片,其特征为:所述的含有探针板的生物芯片所含双面探针板的顶面和底面上,分别固定一个或一个以上的多个探针阵列,并与相应结构一起形成一个或一个以上的多个开放式反应器或非开放式反应器,流动反应器或非流动反应器。

6、根据权利要求5所述的一种多面生物芯片,其特征为:含有探针板的生物芯片的顶面和底面上的结构是对称的或不对称的,位于任一面上的反应器在其对面的投影与该面上的反应器重合、部分重合

或不重合，其所含的任一反应器的结构全都在同一面，或不全在同一面。

7、根据权利要求1或3所述的一种多面生物芯片，其特征在于：与双面探针板分别连接以形成双面生物芯片的部件，是两个在同探针板或探针板基片连接前就分离的部件、一个在同探针板或探针板基片连接后再分离为两件的部件或一个在同探针板或探针板基片连接后仍不分离为两件的部件。

8、根据权利要求1或2所述的一种多面生物芯片，其特征在于：A、其反应器为开放式反应器；B、其反应器中可通过液体自重、机械动力、亲水材料的亲水性、疏水材料的疏水性和以毛细管现象为基础的吸水物质的吸水性诸作用之一种或一种以上的作用或联合作用来控制移动的液相反应介质；C、所述吸水物质和亲水材料包含在、或不包含在芯片出液结构中；D、所述亲水材料包括硅、铝化合物等无机亲水材料、聚丙烯酰胺类化合物等有机亲水材料、各种亲水涂料、天然高分子材料及其衍生物；E、所述吸水物质包括各类有亲水表面的毛细管、纸类、膜类、含纤维或/和亲水无机化合物的固相多孔物质；F、所述疏水材料包括多种有机化合物及其纳米工艺制作的材料。

9、根据权利要求1或2所述的一种多面生物芯片，其特征在于：其包括探针板、反应器隔离结构、可根据需要进行连结或解除连结的以重力、弹力、螺钉或夹具提供的机械力、磁铁或电磁铁提供的磁力、胶粘剂提供的可解粘粘结力等之一种或一种以上的作用为基础来实现的非不可逆密封装置。

10、根据权利要求1或2所述的一种多面生物芯片,其特征在于:A、其双面探针板和与之形成反应器的部件之间通过粘合剂连接;B、根据检测过程中某些步骤对芯片外形尺寸的需要,可通过水溶液、乙醇或/和有机溶剂对连接胶粘剂的溶胀、溶解的物理化学作用,超声波的物理作用,机械力作用等之一种或一种以上的机制共同作用来进行解除所述的粘合连接;C、根据检测过程中某些步骤对芯片外形尺寸的需要,也可通过磨、切、削等之一种或一种以上的机械工艺来部分或完全地切除两面上与探针板形成反应器的部件。

11、根据权利要求1或2所述的一种多面生物芯片,其特征在于:其基片的材料为所有被制成片(膜)后顶面和底面能被同样活化并用以固定生物芯片的探针的材料,包括:无机材料如玻璃、硅和硅化合物等,聚丙烯、聚氯乙烯、聚苯乙烯、尼龙及硝酸纤维素等有机高分子聚合物,以及表面覆盖有金、银等金属、金属化合物的有机材料。

12、根据权利要求1或2所述的一种多面生物芯片,其特征在于:在检测反应和对检测结果进行识别读取的整个过程或部分步骤,一个以上的多个双面探针板或双面生物芯片通过嵌合、粘合、机械定位等方法联接成一个总宽度小于35mm的组合式生物芯片。

13、根据权利要求1所述的一种多面生物芯片,其特征在于:所述的对双面生物芯片进行探针固定的双面探针固定装置包括:同时或不同时地分别对同一基片顶面和底面进行点样或印刷等固定探针的操作,A、在可以同时进行双面探针固定操作时,其结构至少包括可同时分别对同一基片进行探针固定的操作系统;B、在先后分面进行探针固

定操作时,其结构至少包括一个可将同一基片顶面和底面进行位置互换的系统。

14、根据权利要求1所述的一种多面生物芯片,其特征在于:所述的对双面生物芯片进行检测反应操作的装置包括:A、分别对同一生物芯片上位于顶面和底面的反应器进行加样、洗涤等检测反应操作;其结构至少包括有可避免生物芯片顶面上的反应器和底面上反应器发生交叉污染的结构;B、其对同一生物芯片顶面和底面上反应器的检测反应操作可以同时也可以不同时地分别进行;C、在可以同时进行双面检测反应操作时,其结构至少包括可分别对同一生物芯片顶面和底面上的反应器进行检测反应操作的操作系统;D、在先后分面进行检测反应操作时,其结构至少包括一个可对同一芯片顶面和底面进行位置互换的换位系统。

15、根据权利要求1所述的一种多面生物芯片,其特征在于:所述的对双面生物芯片的检测反应结果进行识别与读取的装置包括:A、可以分别对位于一生物芯片顶面和底面上的反应器的反应结果进行识别与读取;其结构至少包括保证其与双面生物芯片结构的相容性的结构;B、其对位于生物芯片两个面上的反应器的反应结果进行的识别与读取,可以同时也可以不同时地分别进行;C、同时进行双面识别读取时,其结构至少包括可分别对位于生物芯片顶面和底面上的反应器进行识别读取的操作系统;D、在先后分面进行识别读取时,其结构至少包括一个可将一生物芯片顶面和底面进行位置互换的换位系统。

47

16、根据权利要求1所述的一种多面生物芯片,其特征在于:所述的一种将上述检测反应操作装置和检测反应结果识别读取装置组合在一起的自动化装置,可以同时或非同时地对位于一生物芯片两个面上的反应器分别进行检测反应操作和检测反应结果识别读取。

说明书

一种多面生物芯片

所属技术领域:

本发明涉及一种多面生物芯片,特别是一种双面生物芯片。这种双面生物芯片在固相载体基片的两个最大面上都分别固定探针。

本发明还涉及与上述双面生物芯片制备及使用相关的装置,包括一种可用于制备双面生物芯片的双面探针固定装置、一种可用于双面生物芯片的双面检测反应操作装置及一种可对双面生物芯片的检测反应结果进行识别读取的双面识别读取装置。

背景技术:

生物芯片,在本发明中也简称芯片,是一种定性和/或定量的检测产品,其原理是将微量探针以可寻址的方式固定在固相载体表面上,使其在微量检测的条件下与生物样品中的目标分子发生特异反应,然后再利用外部设备或肉眼对特异反应的结果进行读取。在本发明中,生物芯片中经过活化处理、用作固定探针的固相载体的部件被定义为基片。

生物芯片有着广泛的应用范围,包括:基因表达检测、基因筛选、药物筛选、疾病诊断治疗、环境监测和治理、司法鉴定等领域。

目前最常用的生物芯片是多肽芯片和基因芯片。多肽芯片是以多个氨基酸的序列结构(包括蛋白质)作为探针固定在基片上制备的生

物芯片。例如以抗原-抗体选择性反应为基础的多肽芯片是将多种特异抗原或多种抗体以可寻址的方式固定在固相基片上，然后与芯片中的其它结构一起，用以检测样品中与之相对应的抗体或抗原。其基本方法与ELISA并没有本质的不同，只不过是将在固相载体上以随机分布方式固定的一种抗原或一种抗体，增加到在固相载体上以可寻址方式固定多种抗原或多种抗体的微点阵。多肽芯片通常采用荧光物质作为标记物质，使其灵敏度较之ELISA方法大大提高。基因芯片是用待检标本中核酸、核苷酸与互补核酸、核苷酸探针杂交，形成杂交体，或与特异性抗体结合，再用呈色反应显示检测结果的芯片。

本发明中的生物芯片，包括所有基于以可寻址的方式将有生物活性的物质（包括DNA、多肽、蛋白质、细胞、组织等生物成分）固定在固相载体上而形成的用于检测的产品。生物芯片的核心是其上的反应器。本发明中的生物芯片的反应器的定义为：生物芯片中固定有探针阵列，在检测时与目标物发生特异性反应的场所及与其连通的其它相关结构。在本发明中，按照生物芯片上反应器的数目 n ，生物芯片被定义为单反应器生物芯片（ $n = 1$ ）和多反应器生物芯片（ n 等于或大于 2）。

本发明中，按照检测过程中所加入的液相介质能否在反应器中定向流动，反应器被定义为流动反应器和非流动反应器；以流动反应器和非流动反应器为特征的生物芯片被分别定义为流动生物芯片和非流动生物芯片。

本发明中，按照识别读取反应结果时，反应器探针上方有无覆盖

开放结构可否被外部仪器或肉眼直接识别读取，将反应器分别定义为开放式和非开放式反应器；以此反应器为特征的生物芯片，被分别定义为开放式和非开放式生物芯片。

生物芯片反应器通常同时具有上述几种反应器的性质。本发明中，这些反应器被定义为以其所具有的全部性质为共同特征的反应器，以此反应器为特征的生物芯片也被同样地定义。例如：如果在检测过程中所加入的液相介质能在反应器中定向流动，在识别读取反应结果时探针阵列上方为无覆盖开放结构，则该反应器被定义为开放式流动反应器，相应的生物芯片被定义为开放式流动生物芯片，或简称开放式流动芯片；其它以次类推。

生物芯片的现状如下：

1，非流动生物芯片

非流动生物芯片包括非开放式非流动生物芯片和开放式非流动芯片，目前最广泛使用的是开放式非流动芯片。

目前的开放式非流动芯片是单反应器开放式非流动芯片，一个例子是以显微镜载玻片为基础，经活化、点样制成、无其它新增结构的芯片。其优点是结构简单，点样和扫描操作均简便易行，部分操作还可在外力推动介质在流动状态下进行（例如喷液清洗）。此种芯片的缺点是当探针种类较少、探针阵列较小时，例如肽芯片或蛋白质芯片的情况，由于一个反应器只需固定数量不多的探针（例如几个至几百个），单反应器芯片就显得效率太低，加大了生产和检测成本，这种情况下生物芯片的实际应用受到了很大限制。

13

为了提高效益，生产商和科技工作者对这类芯片进行了很多改进，例如把单开放式非流动芯片发展为多开放式非流动芯片。目前市场上的多开放式非流动反应器芯片的基本结构为：在一块基片上以高度小于1.0mm的隔离区形成几到几十个圆形或方型的开放式反应器。此一开放式反应器有加液区和反应区，但无出液区。检测时，由于无出液区，反应介质不可以被置于定向流动状态，因而不能进行连续操作，芯片效率仍待进一步提高。此外，也是由于无出液区，开放式反应器隔离区如太低会出现相邻反应器之间的交叉污染，如其太高又不能利用目前使用比较普遍的芯片扫描仪进行阅读。针对这一问题，我们发明了《一种可装拆使用的生物芯片》（专利申请号02113540.1），在检测时，装上一足够高的反应器隔离装置以防交叉污染，扫描时拆掉隔离装置以适应扫描仪要求。

开放式非流动多反应器生物芯片的另一个例子是《多样品微阵列生物芯片》（专利申请号01112783.X）。其探针阵列，固定在一个不反应时为开放式、反应时为没有进出口的密闭反应器中。这种芯片在加样后使用聚酯薄膜单面胶材密闭原来开放的反应器，出样、洗涤前需撕除密闭材料，然后加样、再密闭、反应、再去除密闭，如此反复至检测反应完成，操作非常复杂。

2. 流动生物芯片

流动生物芯片包括非开放式流动生物芯片和开放式流动生物芯片。

1) 非开放式流动生物芯片

①一维非开放式流动芯片

一维芯片是将探针固定在线型固相载体上形成的芯片。其例子包括毛细管生物芯片装置（公告号为CN 2493395Y）和微通

（microchannel）生物芯片。微通道芯片是在芯片片基上制成通常尺寸为：宽度小于0.05mm, 深度小于0.025mm的微通道，再将探针固定于微通道中，然后加入样品并使其流过微通道的探针区，最后采用相应的信号检测系统读取反应结果。微通道生物芯片的一个例子是

Caliper Technologies Inc. 公司的检测用生物芯片

（www.caliper.com），该芯片用玻片作基片，采用光刻和蚀刻技术在基片上刻蚀出微通道，将探针固定于微通道中。芯片上有多个开放的加液孔和储液池，储液池由微通道进行连接。微通道芯片的优点是灵敏度高、速度快。其缺点是：1), 生产过程中需先刻蚀出微通道，点上探针，然后再进行微通道密封制作，其构造复杂，工业化生产难度非常大；2), 检测时液体流速需用专门精密设备控制，例如电渗透装置，等；3), 反应完成后，由于固定的探针分子在其内表面，对于某些检测例如荧光标记物检测，不能直接使用普通芯片扫描仪读取结果。

②二维非开放式流动芯片

二维芯片，即探针阵列分布在平面固相载体上形成的芯片。二维非开放式流动芯片，可以举我们已申请的一项发明《一种包含有封闭式反应器的探针板及其应用》（专利申请号0211364.8）为例。这种二维封闭式流过芯片的基本特征是探针阵列被固定在一个有进、出口

15

的封闭式反应器的平面上，反应等操作可以在介质流动的状态下连续地进行，直至反应全部完成。

三维芯片，即探针固定在于芯片顶面上形成的三维结构中形成的芯片。一个例子是在一块载玻片顶面上固定很多个加有捕捉分子的微小聚乙烯酰胺凝胶条构成的“芯片”，每个凝胶条可用于靶DNA，RNA和蛋白质的分析。

2) 开放式流动生物芯片

液体介质能连续流动进行反应、清洗，反应结果通过探针阵列上方无覆盖开放结构被外部设备直接读取的开放式流动生物芯片，一个例子为我们发明的《一种流动生物芯片及其使用方法》（专利申请号：02133622.9）。这种芯片克服了非开放式芯片的结构和操作复杂性，开放式芯片的介质非流动性的缺点，尽可能多地发挥了流动芯片的介质可流动性，开放式非流动芯片的结构简单性和扫描简易性的优点，提高了检测灵敏度、减少了操作时间和降低了芯片单位反应器的生产成本和检测成本。

尽管上述各种生物芯片各有很多优点，但是目前所有以固体基片为探针分子载体的生物芯片，均只在固相载体基片的一个表面上固定有探针。在本发明中，只在基片的一个表面上固定有探针的生物芯片被定义为单面生物芯片，简称单面芯片。在实际生产过程中，基片的全部外表面又往往经历过活化处理，都有进行探针固定化反应的条件。因而，现有单面芯片中基片有效面积的利用效率尚待提高。

此外，目前所有以固体基片为探针分子载体的生物芯片制备及应

用装置均是以单面芯片为依据发明、设计和制造的，也同样地存在提高效率的问题。

发明内容：

本发明的目的在于提供一种多面生物芯片，特别是一种可以尽可能多地利用基片表面有效面积、在基片单位体积上固定尽可能多的探针和/或形成尽可能多的反应器的生物芯片，以降低单位检测所需生物芯片的成本及提高检测效率。本发明还涉及相应的本发明生物芯片的制备及应用的相关装置。

本发明的目的是这样实现的：

本发明通过分别在芯片立体结构的顶面、底面和侧面诸面中，一个以上、数量确定的多个面上固定识别分子探针，来最大化地利用固相载体的有效面积和体积，以减少检测成本和提高检测效率。

在本发明中，基片被定义为生物芯片中用作固相载体以固定探针的部件或结构；探针片被定义为生物芯片中在基片上固定探针形成的部件或结构。基片是一个立体结构；通常其全部或大部分表面具有可固定探针的活性。基片立体所具有表面的数目，取决于其几何形状。例如，圆球状基片只有一个表面，正方形基片有六个面积相等的表面，圆形薄板（片）状基片则有面积最大的顶面和底面及一个面积较小的侧面，等等。而目前最广泛使用的基片，是高度相对较小的矩形薄板（片）状基片，具有面积最大的顶面和底面及四个面积较小的侧面（见图1）。

在本发明中，多面探针片为在基片立体顶面、底面及侧面诸面中

一个以上、数量确定的多个面上固定有探针的探针板；多面生物芯片，简称多面芯片为至少含有一个多面探针板的生物芯片。通过在具有活性的基片，例如活化的立方体形基片的立体顶面、底面及四侧面诸面中一个以上的多个面上固定探针，可以制成多面探针板，例如六面探针板；通过使用至少一个多面探针板，例如一个六面探针板，可以制成一个六面生物芯片。

一种多面生物芯片，其特征在于：在其立体结构的顶面、底面和侧面诸面中，一个以上、数量确定的多个面上固定有识别分子探针。

本发明所述的生物芯片至少含有一个多面探针板，即在基片立体结构的顶面、底面和侧面诸面中，一个以上、数量确定的多个面上固定有探针的探针板。

本发明所述的探针板至少含有一个在基片的顶面和底面两个面上固定有探针的双面探针板。

本发明所述的生物芯片的结构仅含探针板，或含有探针板和通过不可拆卸的或可拆卸的方式与探针片联接的、属于或不属于反应器的其它结构和部件。

本发明含有探针板的生物芯片所含双面探针板的顶面和底面上，分别固定一个或一个以上的多个探针阵列，并与相应结构一起形成一个或一个以上的多个开放式反应器或非开放式反应器，流动反应器或非流动反应器。

本发明含有探针板的生物芯片的顶面和底面上的结构是对称的或不对称的，位于任一面上的反应器在其对面的投影与该面上的反应

器重合、部分重合或不重合，其所含的任一反应器的结构全都在同一面，或不全在同一面。

本发明与双面探针板分别连接以形成双面生物芯片的部件，是两个在同探针板或探针板基片连接前就分离的部件、一个在同探针板或探针板基片连接后再分离为两件的部件或一个在同探针板或探针板基片连接后仍不分离为两件的部件。

本发明所述的一种新型生物芯片，包括 A、其反应器为开放式反应器；B、其反应器中有通过液体自重、机械动力、亲水材料的亲水性和以毛细管现象为基础的吸水物质的吸水性诸作用之一种或一种以上的作用或联合作用来控制移动的液相反应介质；C、所述吸水物质和亲水材料包含在、或不包含在芯片出液结构中；D、所述亲水材料包括硅、铝化合物等无机亲水材料、聚丙烯酰胺类化合物等有机亲水材料、各种亲水涂料、天然高分子材料及其衍生物；E、所述吸水物质包括各类有亲水表面的毛细管、纸类、膜类、含纤维或/和亲水无机化合物的固相多孔物质；F、所述疏水材料包括多种有机化合物及其纳米工艺制作的材料。

本发明所述的多面芯片包括探针板、反应器隔离结构、可根据需要进行连结或解除连结的以重力、弹力、螺钉或夹具提供的机械力、磁铁或电磁铁提供的磁力、胶粘剂提供的可解粘粘结力等之一种或一种以上的作用为基础来实现的非不可逆密封装置。

本发明所述的多面芯片包括：A、其双面探针板和与之形成反应器的部件之间通过粘合剂连接；B、根据检测过程中某些步骤对芯片外形

19

尺寸的需要,可通过水溶液、乙醇或/和有机溶剂对连接胶粘剂的溶胀、溶解的物理化学作用,超声波的物理作用,机械力作用等之一种或一种以上的机制共同作用来进行解除所述的粘合连接; C、根据检测过程中某些步骤对芯片外形尺寸的需要,也可通过磨、切、削等之一种或一种以上的机械工艺来部分或完全地切除两面上与探针板形成反应器的部件。

本发明所述的基片的材料为所有被制成片(膜)后顶面和底面能被同样活化并用以固定生物芯片的探针的材料,包括:无机材料如玻璃、硅和硅化合物等,聚丙烯、聚氯乙烯、聚苯乙烯、尼龙及硝酸纤维素等有机高分子聚合物,以及表面覆盖有金、银等金属、金属化合物的有机材料。

本发明在检测反应和对检测结果进行识别读取的整个过程或部分步骤,一个以上的多个双面探针板或双面生物芯片通过嵌合、粘合、机械定位等方法联接成一个总宽度小于35mm的组合式生物芯片。

本发明所述的对双面生物芯片进行探针固定的双面探针固定装置包括:同时或不同时地分别对同一基片顶面和底面进行点样或印刷等固定探针的操作, A、在可以同时进行双面探针固定操作时,其结构至少包括可同时分别对同一基片进行探针固定的操作系统; B、在先后分面进行探针固定操作时,其结构至少包括一个可将同一基片顶面和底面进行位置互换的系统。

本发明所述的对双面生物芯片进行检测反应操作的装置包括: A、分别对同一生物芯片上位于顶面和底面的反应器进行加样、洗涤等检

测反应操作;其结构至少包括有可避免生物芯片顶面上的反应器和底面上反应器发生交叉污染的结构;B、其对同一生物芯片顶面和底面上反应器的检测反应操作可以同时也可以不同时地分别进行;C、在可以同时进行双面检测反应操作时,其结构至少包括可分别对同一生物芯片顶面和底面上的反应器进行检测反应操作的操作系统;D、在先后分面进行检测反应操作时,其结构至少包括一个可对同一芯片顶面和底面进行位置互换的换位系统。

本发明所述的对双面生物芯片的检测反应结果进行识别与读取的装置包括:A、可以分别对位于一生物芯片顶面和底面上的反应器的反应结果进行识别与读取;其结构至少包括保证其与双面生物芯片结构的相容性的结构;B、其对位于生物芯片两个面上的反应器的反应结果进行的识别与读取,可以同时也可以不同时地分别进行;C、同时进行双面识别读取时,其结构至少包括可分别对位于生物芯片顶面和底面上的反应器进行识别读取的操作系统;D、在先后分面进行识别读取时,其结构至少包括一个可将一生物芯片顶面和底面进行位置互换的换位系统。

本发明所述的一种将上述检测反应操作装置和检测反应结果识别读取装置组合在一起的自动化装置,可以同时或非同时地对位于一生物芯片两个面上的反应器分别进行检测反应操作和检测反应结果识别读取。

在本发明中,双面探针片为在基片顶面和底面上固定有探针的探针板(见图2);双面生物芯片,简称双面芯片为含有双面探针板的生

物芯片。通过在具有活性的薄板（片）状基片，例如活化的圆形或矩形薄板（片）状基片的最大两个面即顶面和底面上固定探针，可以制成圆形或矩形双面探针板；通过双面探针板，例如圆形或矩形双面探针板，可以制成双面生物芯片。

本发明中的双面生物芯片，其结构组成有两种：A、只含有一个双面探针板的双面芯片，例如通过在目前常用的活化的75mm×25mm×1.0mm玻片底面和顶面固定探针形成的双面探针片形成一个双面芯片；B、含有一个双面探针板和属于或不属于反应器的其它结构和部件的双面芯片，双面探针板和所述结构和部件通过不可拆卸的或可拆卸的方式联接，所述结构和部件的例子包括：隔离结构、加样结构、出液结构、通道、检测池、定位装置、定距装置、动力装置、液体流速形成和控制装置、分离装置等。

本发明中的双面生物芯片的顶面和底面上可以分别固定一个（图2）或一个以上的多个探针阵列，并与相应结构一起形成一个或一个以上的多个反应器（图3至图13），从而形成一个多反应器双面生物芯片。本发明中的双面生物芯片上的反应器，可以是开放式反应器、也可以是非开放式反应器；可以是在整个检测过程中都开放的狭义开放式反应器、也可以是仅在部分检测过程中开放的广义开放式反应器；可以是在整个或部分检测过程中有液相介质定向流动的流动式反应器、也可以是非流动式反应器。例如，双面生物芯片顶面和底面上分别固定16个探针阵列，并与相应结构（例如隔离结构和出液结构）一起在每个面上形成16个开放式反应器，构成一个32反应器双面开放式生物芯片。

(见图7、8、9)。

本发明中的双面生物芯片,其顶面和底面上的结构可以是对称、也可以是不对称的,不对称的双面生物芯片的例子见图4、5。本发明中的双面生物芯片位于其顶面和底面任一面上的反应器,在其对面的投影与该面上的反应器可以重合、部分重合或不重合,例如两面上的探针阵列可以互相错位排列(见图3、4、5、6)。本发明中的双面生物芯片中位于其顶面和底面任一面上的任一反应器,其结构可以全都在同一面,或不全在同一面,例如顶面上反应器的加液区入口可以开在底面上,等等。

本发明的双面生物芯片中,与探针板两面分别连接以形成双面生物芯片的部件,可以是两个在同探针板或探针板基片连接前就分离的部件,例如两个塑料隔离板;也可以是一个在同基片连接后再分离为两件的部件,例如一个合页状的带孔塑料隔离板,在摺起分别与基片顶面、底面粘接后再切去两页之间的连接结构;还可以是一个在同基片连接后仍未分离为两件的部件,例如可以将两个面上的聚丙烯脂反应器隔离板,注塑成型为合页状的一件,粘合在基片两个面上。

在目前的单面芯片中,其反应器为开放式反应器的芯片具有广泛的应用。本发明的双面生物芯片中,其反应器为开放式反应器的芯片,由于操作简单也可以有广泛的应用。本发明的开放式双面生物芯片,其反应器中液相反应介质的移动,可以通过液体自重、动力机械、亲水材料的亲水性和以毛细管现象为基础的吸水物质的吸水性等形成和控制流速的诸作用之一种或一种以上的作用的联合作用来实现

的；所述吸水物质和亲水材料包含在、或不包含在芯片出液结构中；所述亲水材料包括硅、铝化合物等无机亲水材料、聚丙烯酰胺类化合物等有机亲水材料、各种亲水涂料、天然高分子材料及其衍生物；所述吸水物质包括各类有亲水表面的毛细管、纸类、膜类、含纤维或/和亲水无机化合物的固相多孔物质。

本发明中的双面生物芯片, 可以是可拆卸的双面生物芯片, 即其探针片与其顶、底两面上反应器隔离结构之间, 可以根据需要进行连结或解除连结的非不可逆连接的双面芯片。这类双面芯片通常包括探针板、反应器隔离结构及其对探针片密封的非不可逆密封装置；所述非不可逆密封装置为以重力、弹力、螺钉或夹具提供的机械力、磁铁或电磁铁提供的磁力、胶粘剂提供的可解粘粘结力等之一种或一种以上的作用机制为基础的装置(见我们的另一项发明《一种可装拆使用的生物芯片》专利申请号02113540.1)。

本发明中的双面生物芯片, 其探针板和与之形成反应器的部件之间可以通过粘合剂连接, 并可根据需要解除所述的粘合连接。根据某些步骤对芯片外形尺寸的需要, 可以通过水溶液、乙醇或/和有机溶剂对连接胶粘剂的溶胀、溶解的物理、化学作用, 超声波的物理作用, 机械力作用等之一种或一种以上的机制共同作用来进行解除所述的粘合联接。根据某些步骤对芯片外形尺寸的需要, 也可通过磨、切、削等之一种或一种以上的机械工艺来部分或完全地切除两面上与探针板形成反应器的部件, 例如荧光扫描步骤时一些信号的扫描仪对芯片高度的限制。

本发明中的双面生物芯片在检测反应和对检测结果进行识别读取的整个过程或部分步骤中, 一个以上的多个双面探针板或双面生物芯片可以通过嵌合、粘合、机械定位等方法联接形成一个总宽度小于35mm的组合式生物芯片, 以提高效率。例如, 检测反应完成后, 通过解除粘接而获得的叁个尺寸为 $75\text{mm} \times 8.3\text{mm} \times 1.0\text{mm}$ 或两个尺寸为 $75\text{mm} \times 12.5\text{mm} \times 1.0\text{mm}$ 的双面探针片可以被嵌合在一个尺寸为 $75\text{mm} \times 25\text{mm} \times 1.0\text{mm}$ 的矩形槽中, 再进行扫描。

为了高效地制备和利用双面生物芯片, 本发明还提供了相关装置, 包括一种可用于制备双面生物芯片的双面点样机、一种可用于双面生物芯片的双面检测反应操作装置及一种可对双面生物芯片的检测反应结果进行识别读取的装置。

本发明中的进行探针固定的双面探针固定装置, 可以同时或不同时地分别对同一生物芯片顶面和底面进行点样或印刷等固定探针的操作。在可以同时进行两面探针固定操作时, 其结构至少包括可同时分别对同一生物芯片进行探针固定的操作系统, 例如将基片平面垂直于水平面, 点样针头平行于水平面分别在基片顶面和底面上点样; 在先后进行两面探针固定操作时, 其结构至少包括一个可将同一生物芯片或基片顶面和底面进行位置互换的系统, 例如先将基片顶面向上进行点样, 然后通过一个可以将基片沿其长轴作180度旋转的装置, 使其底面向上进行点样。

本发明还提供一种可对本发明中的双面生物芯片进行双面检测反应操作的装置, 可以分别对同一生物芯片上位于顶面和底面的反应

器进行加样、洗涤等检测反应操作;其结构至少包括有可避免生物芯片顶面上的反应器和底面上反应器发生交叉污染的结构,例如吸水材料、隔离结构、排液管或沟、抽提系统等。这种双面检测反应操作装置,可以同时也可以不同时地分别对同一生物芯片顶面和底面上的反应器进行检测反应操作;在可以同时进行双面检测反应操作时,其结构至少包括可分别对同一生物芯片顶面和底面上的反应器进行检测反应操作的操作系统 例如将芯片平面垂直于水平面,加样器平行于水平面分别在芯片顶面和底面上进行加样、洗涤等操作;在先后分别进行检测反应操作时,

其结构至少包括一个可对同一芯片顶面和底面进行位置互换的换位系统,例如先将芯片顶面向上进行检测反应操作,然后通过一个可以将芯片沿其长轴作180度旋转的装置,使其底面向上进行检测反应操作。

本发明还提供一种可对本发明中的生物芯片的检测反应结果进行双面识别与读取的装置,可以分别对位于生物芯片顶面和底面上的反应器的反应结果进行识别与读取;其结构至少包括保证其与双面生物芯片结构的相容性的结构,例如扫描仪的进样窗与扫描室尺寸和扫描焦距与外形尺寸的配合。这种双面识别读取装置,可以同时也可以不同时地分别对位于生物芯片两个面上的反应器的反应结果进行识别与读取;在可以同时进行双面识别读取时,其结构至少包括可分别对位于生物芯片顶面和底面上的反应器进行识别读取的操作系统;在分先后进行双面识别读取时,其结构至少包括一个可将一生物芯片顶

面和底面进行位置互换的换位系统。

本发明中的多面生物芯片,同现有的单面生物芯片比较,有如下优点:

- 1) 尽可能多地利用了基片的有效面积;
- 2) 在同样的探针数目和反应器数目的前提下,尽可能的减小了芯片体积;
- 3) 可以有效的降低单位检测项目的芯片成本和提高芯片使用效率。

附图及图面说明:

图1 基片各面示意图

图2 一种双面固定探针阵列的双面探针片示意图

图3 一种独立进出液通道8反应器封闭式流动双面生物芯片结构图

图4 一种独立进液、共同出液通道8反应器封闭式流动双面生物芯片

图5 一种共同进出液通道8反应器封闭式流动双面生物芯片

图6 几种多反应器开放式非流动双面生物芯片

图7 一种共同出液通道开放式流动32反应器双面生物芯片

图8 一种32反应器开放式双向流动双面生物芯片

图9 一种32反应器开放式单向流动双面生物芯片

图10 两种64反应器开放式双向流动双面生物芯片

图11一种多进液通道、单出液通道2反应器封闭式流动双面生物片

图12几种流动式带检测池双面对称生物芯片

图13一种16反应器开放式流动双面生物芯片的活扣式装置

具体实施方式:

实施例1 一种非开放式流动双面生物芯片实施例:

本例中的双面生物芯片的结构见图3, 芯片中间有一块在确定位置固定有探针的探针板, 探针板的两面粘贴上两块其上有池和槽的成型塑料板, 探针板每一面有4个独立的反应器, 每一个反应器包括一个反应池和独立的进出通道, 进出口使用前由单面不干胶封闭。使用时, 如果只使用一部分反应池, 只需将所用的反应器出入口部分的不干胶贴揭下即可, 余下的反应池可以后使用。加样和洗涤使用配套的专用加样设备或多头加样枪进行。将反应器放在专用夹具中, 芯片出口下紧贴吸水材料或接液容器。在同时使用8个反应器时, 在每一个加样口中按照设定的速度加入定量的样品, 样品中的目标分子结合在包被的捕捉分子上, 洗去未结合的样品成分, 加入罗丹明标记的亲合分子, 定量的罗丹明标记的分子结合在被捕捉的目标分子上, 反应完成后, 揭掉探针板两面粘贴的成型塑料片, 用荧光扫描仪或CCD器件进行检测, 计算机处理后得到定性和定量的检测结果。

实施例2 一种开放式双面生物芯片实施例:

本例中的双面生物芯片的结构见图4, 芯片中间有一块在确定位

置固定有探针的探针板，探针板的两面粘贴上两块其上有孔和槽的成型塑料板，塑料板的外侧可逆地贴上一层塑料膜，探针板每一面有4个独立的反应器，每一个反应器包括一个反应池和独立的进液通道和共同的出液通道，进出口使用前由单面不干胶封闭。使用时，只需将反应器出入口部分塑料膜揭下即可使用。加样和洗涤使用配套的专用加样设备或多头加样枪进行。将反应器放在专用夹具中，使其加液口在上，出液口在下，芯片出口下紧贴吸水材料和接液容器。在使用时，在每一个加样口中按照设定的速度加入定量的样品，样品沿着加液通道底面向下流动，样品中的目标分子结合在包被的捕捉分子上，洗去未结合的样品成分，加入荧光素标记的亲和分子，定量的罗丹明标记分子结合在被捕捉的目标分子上，揭去塑料板的外侧贴上的那层塑料膜，即可用荧光扫描仪或CCD器件进行检测，计算机处理数据得到定性和定量的检测结果。

实施例3 非开放式生物芯片实施例

本例中的双面生物芯片的结构见图5，芯片中间有一块在确定位置固定有探针的探针板，探针板的两面粘贴上两块其上有孔和槽的成型塑料板，塑料板的外侧可逆地贴上一层塑料膜，探针板每一面有4个独立的反应器，每一个反应器包括一个反应池和共同的进液槽、独立的进出液通道、和一段共同的出液通道，加样槽和出液口使用前由单面不干胶封闭。使用时，只需将反应器出入口部分塑料膜揭下，将反应器放在专用夹具中，使其加液口在上，出液口在下，芯片出口下

紧贴吸水材料和接液容器即可使用。加样时使用配套的专用加样设备或多通道加样枪进行，加入洗涤液和荧光标记物只需将吸液和荧光标记物溶液均匀地加入加液槽即可。在使用时，在每一个加样口中按照设定的速度加入定量的样品，样品沿着加液通道底面向下流动，样品中的目标分子结合在包被的捕捉分子上，洗去未结合的样品成分，加入罗丹明标记的亲和分子定量的罗丹明标记分子结合在被捕捉的目标分子上，揭去塑料板的外侧贴上的那层塑料膜，即可用荧光扫描仪或CCD器件进行检测，计算机处理数据得到定性和定量的检测结果。

实施例4 开放式生物芯片实施例：

本例中的双面生物芯片的结构见图6，芯片由一块玻璃基片两边粘上各种形状的多孔有机材料板制成。有机材料板孔中间确定位置固定探针，探针板每一面可有多个独立的反应器，每一个反应池为一个反应器，无进出液通道。反应池使用前由单面不干胶封闭。使用时，只需将使用面的塑料膜揭下即可。加样和洗涤使用配套的专用加样设备或多头加样枪进行。使用操作与ELISA微孔板相似，在每一个反应池中加入定量的样品，样品中的目标分子结合在包被的捕捉分子上，洗去未结合的样品成分。加入罗丹明标记的亲和分子，定量的罗丹明标记分子结合在被捕捉的目标分子上，用荧光扫描仪或CCD器件进行检测，计算机处理数据得到定性和定量的检测结果。

实施例5 开放式流动双面生物芯片实施例

本例中的双面生物芯片的结构见图7，芯片中间有一块在确定位置固定有探针的探针板，探针板的两面粘贴上两块其上有16个孔和相应通道的成型塑料板，使探针板每一面形成2列8个反应器，每一个反应器包括一个反应池和独立的加液区，出液通道，塑料板的外侧和出口贴上一层不干胶塑料膜。使用时，将塑料膜揭下即可。加样和洗涤使用配套的专用设备或多头加样枪进行。将反应器放在专用夹具中，使其加液区在上，出液口在下，下紧贴吸水材料和接液容器。在使用时，在每一个加样口中按照设定的速度加入定量的样品，样品沿着加液通道底面向下流动，样品中的目标分子结合在包被的捕捉分子上，洗去未结合的样品成分，加入罗丹明标记的亲和分子，定量的罗丹明标记分子结合在被捕捉的目标分子上，揭去塑料板的外侧贴上的那层塑料膜，即可用荧光扫描仪或CCD器件进行检测，计算机处理数据得到定性和定量的检测结果。

实施例6 开放式流动双面生物芯片实施例

本例中的双面生物芯片的结构见图8，芯片中间有一块在确定位置固定有探针的探针板，探针板的两面粘贴上两块其上有16个孔和相应通道的成型塑料板，使探针板每一面形成2列8个反应器，每一个反应器包括一个反应池和独立的加液区，和流出方向相反的出液通道，出液通道两侧各有两条隔离沟，反应器的上方和出口贴上一层不干胶塑料膜。使用时，将塑料膜揭下即可。加样和洗涤使用配套的专用设备或多头加样枪进行。将反应器水平放在专用夹具中，使其出液口紧

贴吸水材料，吸水材料连接废液的容器。在使用时，在每一个加样口中按照设定的速度加入定量的样品，样品沿着加液区、反应池、出液通道流动，进入吸水材料，样品中的目标分子结合在包被的捕捉分子上，洗去未结合的样品成分，加入罗丹明标记的亲和分子，定量的罗丹明标记分子结合在被捕捉的目标分子上，用荧光扫描仪或CCD器件进行检测，计算机处理数据得到定性和定量的检测结果。

实施例7 可装拆双面生物芯片实施例

本例中的双面生物芯片的结构见图6，由一块玻璃基片两面各固定有8个探针阵列形成的多个独立的反应器，每一个反应器只有一反应池，无进出液通道。芯片使用前两面固定有探针阵列的探针板放在保护盒中，使用时取出放在专用的电磁工作台上。电磁工作台上设有保护下方的非使用面的密封胶圈，使用时由一块其上有8个圆孔的带磁性材料的橡胶板覆盖在工作面上，将电磁工作台的电磁线圈通电，即形成了一个单面8反应器的生物芯片。其操作步骤同实施例4。

实施例8 一种可解粘结的生物芯片

本例中的双面生物芯片的结构见图8，由一块玻璃基片两面各固定16个探针阵列形成的多个独立的反应器，每一个反应器有一个反应池、加液的半圆和出液沟形成。制作时将一块长条形两面固定有探针阵列的探针板（图8中间的虚线部分）粘合在两块16孔的聚酯板中间，做成一个32反应器的生物芯片。其操作步骤基本同实施例6，不同的

做成一个32反应器的生物芯片。其操作步骤基本同实施例6，不同的是，在放入扫描仪前，将芯片两边可逆粘合的塑料成型板揭去，再进行扫描即可。

说明书附图

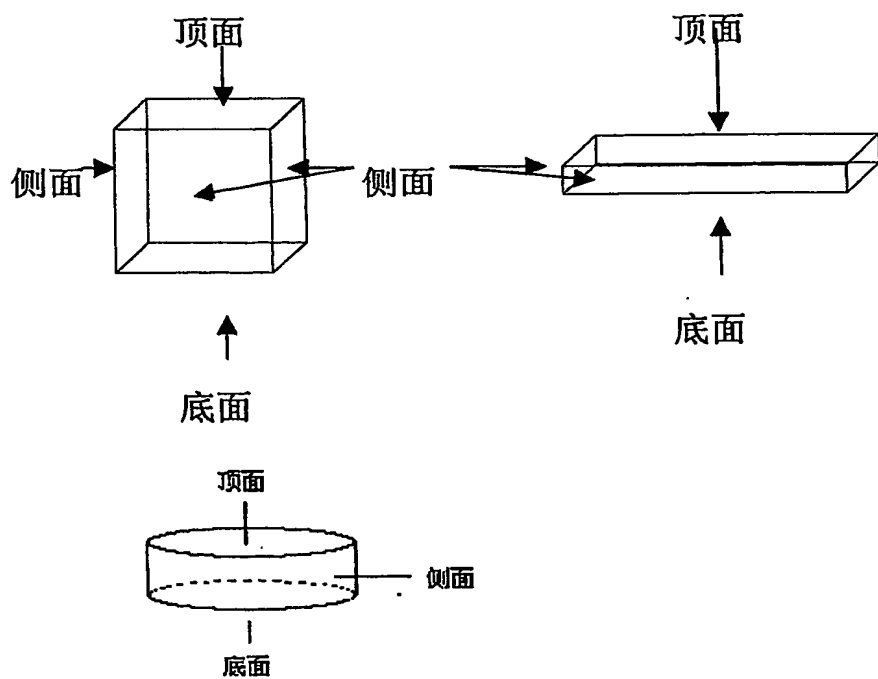


图 1

说明书附图



图2

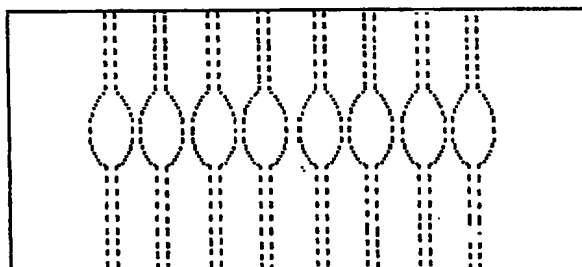
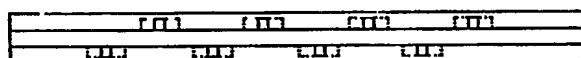


图3

说明书附图

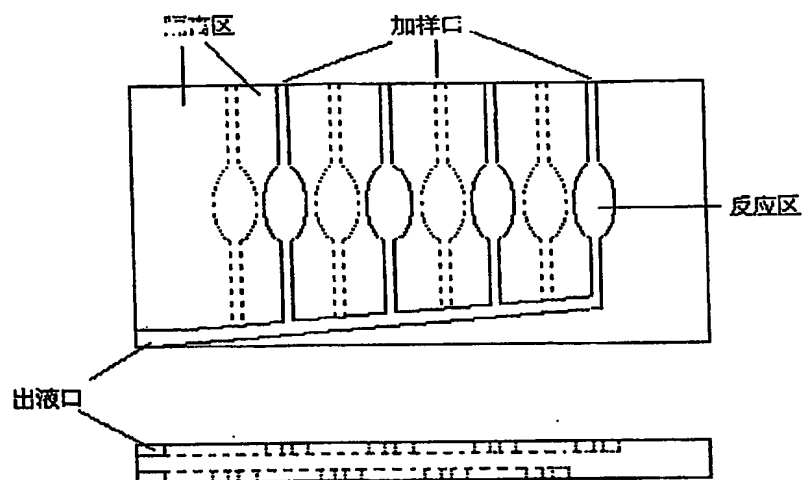


图 4

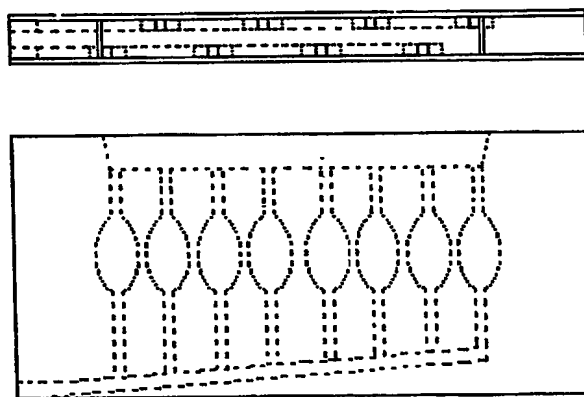


图5

说明书附图

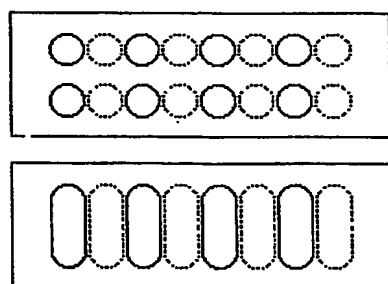


图6

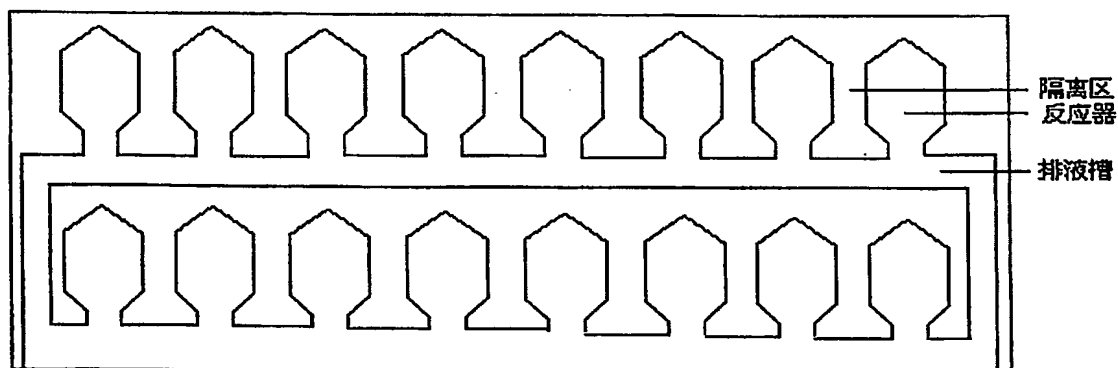


图7

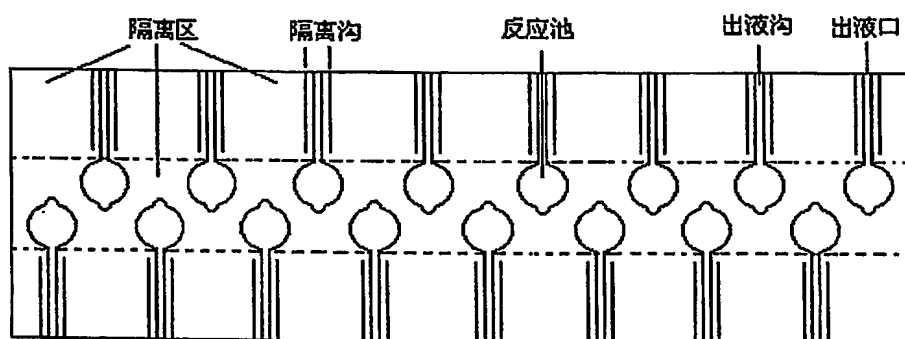


图8

说明书附图

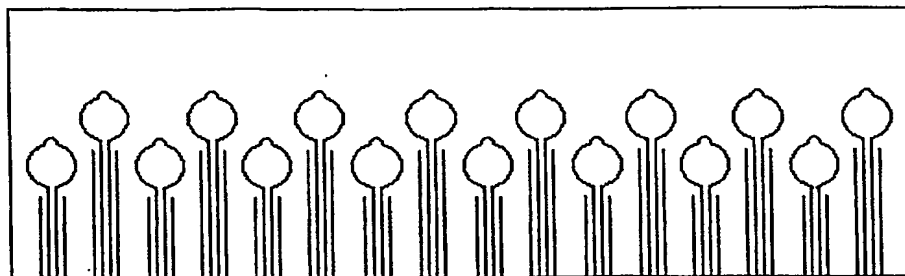


图9

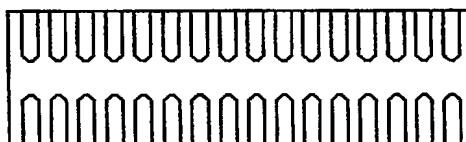
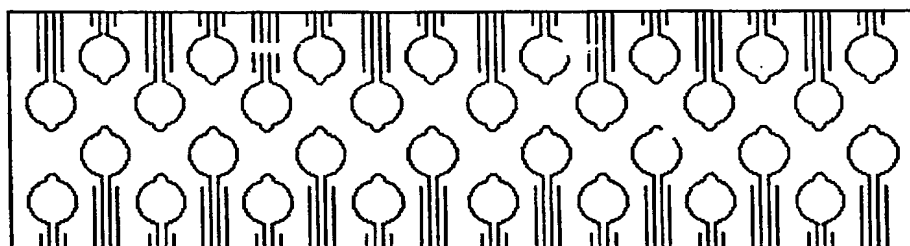


图10

38

说明书附图

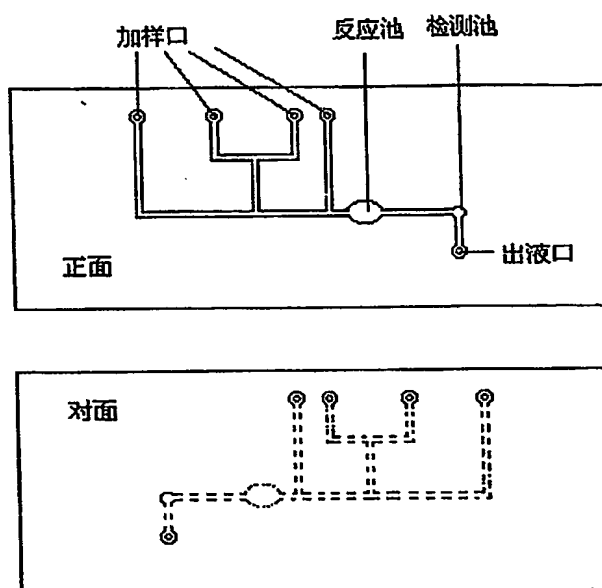


图11

说明书附图

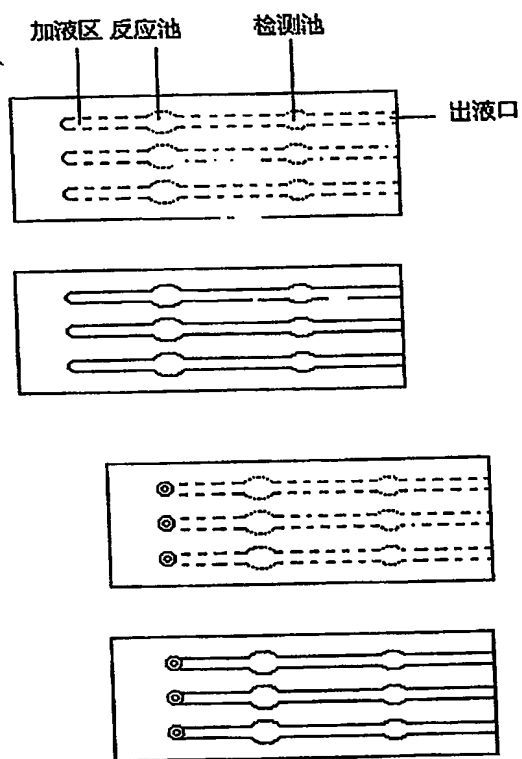


图12

说明书附图

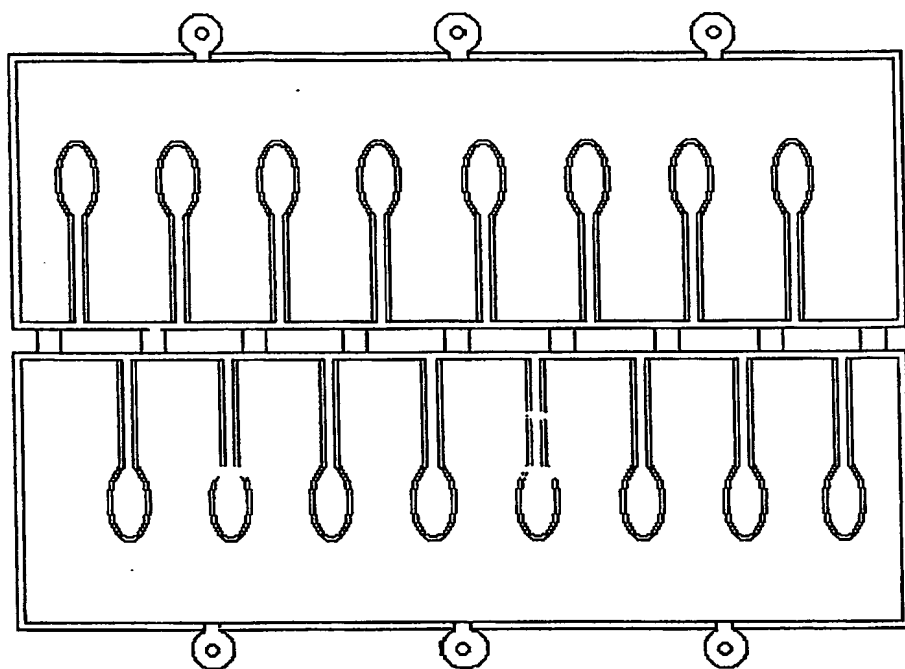


图13